



FIGURA 1. *Thymus pulegioides*. Foto: S. Cañigüeral.

Potencial terapêutico de extractos de plantas em infecções genitais

Ana Palmeira-de-Oliveira ^a

Branca Maria Silva ^a

Rita Monteiro Machado ^a

Rita Palmeira-de-Oliveira ^a

Jose Martinez-de-Oliveira ^{a, b}

Ligia Salgueiro ^c

^a CICS-UBI – Centro de Investigação em Ciências da saúde, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal

^b Departamento da Mulher e da Criança, Hospital da Cova da Beira, Covilhã, Portugal

^c Centro de Estudos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

Direcção de contacto:

Ana Palmeira-de-Oliveira
Laboratório de Microbiologia
Faculdade de Ciências da Saúde
Universidade da Beira Interior
Av Infante D. Henrique
6200 Covilhã - Portugal

Tel. 275329000

Email: apo@fcsaude.ubi.pt

Resumo

Os compostos naturais têm servido de base para o desenvolvimento de novos produtos terapêuticos. A actividade antimicrobiana destes produtos é objecto de diversos estudos.

As infecções vaginais são a principal razão pela qual as mulheres procuram ajuda especializada. Os produtos naturais têm sido bastante procurados pelas mulheres que sofrem de infecções vaginais crónicas, dado o aumento das resistências dos microrganismos aos antimicrobianos clássicos, traduzindo-se na ineficácia clínica das estratégias terapêuticas disponíveis.

Neste artigo apresentamos uma revisão dos estudos mais relevantes que reportam a actividade antimicrobiana de extractos naturais e seus compostos isolados em microrganismos responsáveis por algumas das mais prevalentes infecções genitais, nomeadamente *Candida* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis* e vírus do papiloma humano. A relação entre a composição dos extractos e a sua actividade antimicrobiana é realçada e apresentam-se em cada caso as mais importantes formulações terapêuticas desenvolvidas com base nestes produtos naturais.

Palavras-chave

Actividade antimicrobiana, formulações terapêuticas, óleos essenciais, infecções genitais, compostos naturais e extractos de plantas.

Potencial terapéutico de los extractos de plantas en infecciones genitales

Resumen

Los productos naturales siguen siendo una importante base para el desarrollo de nuevas preparaciones. Su actividad antimicrobiana ha sido tema de distintos estudios.

Las infecciones son una de los principales motivos de consulta especializada. Los productos naturales son muy solicitados por las mujeres que sufren molestias infecciosas genitales crónicas, debido al aumento de resistencias de los microorganismos a los antimicrobianos clásicos que se traduce por su ineficacia.

En este artículo hacemos una revisión de los estudios más relevantes sobre la actividad antimicrobiana de extractos naturales y de sus constituyentes individuales en microorganismos responsables por las infecciones genitales más frecuentes en la mujer: *Candida* spp. *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis* y virus del papiloma humano. Se describe la relación entre la composición de los extractos y su actividad antimicrobiana así como las más importantes formulaciones terapéuticas desarrolladas.

Palabras clave

Actividad antimicrobiana, formulaciones terapéuticas, aceites esenciales, infecciones genitales, compuestos naturales, extractos de plantas.

Therapeutic potential of plant extracts on genital infections

Abstract

Natural products remain an important basis for the development of new formulations. Their antimicrobial activity has been the subject of various studies.

Infections are one of the main reasons women visit a gynecologist. Due to the increased microorganism resistance to classic antimicrobials, natural products are in demand by women suffering from genital chronic infectious.

In this article we review the most relevant studies on the antimicrobial activity of natural extracts and its individual constituents against microorganisms responsible for most frequent genital infections in women: *Candida* spp. *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis* and human papilloma virus. We also describe the relationship between the extracts chemical composition and its antimicrobial activity as well as the most important therapeutic formulations developed.

Keywords

Antimicrobial activity, therapeutic formulations, essential oils, genital infections, natural compounds, extracts of plants.

Introdução

Os produtos naturais têm sido tradicionalmente utilizados pelas suas propriedades terapêuticas. Embora a síntese orgânica tenha contribuído com um significativo número de novas moléculas, uma boa cota dos medicamentos continua a resultar, directa ou indirectamente das plantas ⁽¹⁻³⁾. Na realidade, nos países industrializados o uso de plantas com propriedades medicinais tem vindo a aumentar ao longo dos últimos anos ^(4, 5). Os extractos vegetais podem ser usados na preparação de diversas formas farmacêuticas, nomeadamente cápsulas, comprimidos, cremes, pomadas, xaropes e elixires ⁽⁶⁾. A utilização destes produtos que possuem efeito antimicrobiano é considerada uma atractiva forma de desenvolvimento de novos agentes anti-infecciosos. Os metabolitos secundários, nomeadamente os compostos fenólicos, terpenos, esteróides, iridóides e alcalóides têm demonstrado possuir um vasto campo de aplicação nesta área ⁽⁷⁾. Na realidade nos últimos anos, devido ao aumento de resistências antimicrobianas, a pes-

quisa de novas e mais eficazes alternativas terapêuticas tem colocado os metabolitos bioactivos numa posição de destaque relativamente à síntese química, considerada altamente dispendiosa e morosa ^(1, 7, 8).

As infecções vaginais são a primeira causa de consulta ginecológica ⁽⁹⁾. A procura e o uso pelas mulheres de produtos à base de plantas para o tratamento de infecções crónicas tem sido descrito, apontando para uma preferência pelos produtos naturais ⁽¹⁰⁾.

A bacteriose vaginal (BV) é a infecção genital mais comum, sobretudo em mulheres entre os 15 e os 44 anos de idade ⁽¹¹⁻¹³⁾. É mais prevalente que a candidose vulvovaginal (CVV) e a tricomoniase, sendo considerado o grupo de risco as mulheres grávidas e as que apresentam infecção sexual transmissível (IST) ^(12, 14). Embora a BV seja uma infecção polimicrobiana, a presença de *Gardnerella vaginalis* em 95% dos casos clínicos parece indicar que esta espécie será o principal patógeno ⁽¹⁵⁻¹⁸⁾. As opções terapêuticas clássicas para o tratamento desta infecção são reduzidas e

o aumento de resistências dos microrganismos envolvidos tem vindo a ser cada vez mais reportado ^(19,20).

A CVV é a segunda infecção vaginal mais comum, logo após a BV e a mais frequente manifestação clínica causada por *Candida* spp., afectando 70-75% das mulheres pelo menos uma vez na vida. Entre estas, 40-50% sofreram novos episódios e 5 a 8% das mulheres adultas serão diagnosticadas com infecção recorrente (CVVR) ⁽²¹⁻²³⁾. A variedade de compostos antifúngicos disponíveis é reduzida e o aumento de resistências tem promovido o estudo de estratégias terapêuticas que apresentem mecanismos de acção distintos de modo a ultrapassar esta limitação. Os extractos de plantas parecem constituir uma alternativa terapêutica consistente e eficaz ⁽⁴⁾.

A tricomoniose, infecção causada pelo parasita *Trichomonas vaginalis*, é uma das mais comuns ISTs de origem não-viral ^(24, 25). O metronidazol é o fármaco mais utilizado no seu tratamento muito embora apresente alguns efeitos secundários bastante limitantes, como é o caso do sabor metálico e enxaqueca. A sua toxicidade, expressa em efeitos carcinogénicos e teratogénicos, tem impulsionado o estudo de estratégias terapêuticas com menor toxicidade e maior eficácia ^(26, 27). Estudos que demonstram o efeito antimicrobiano de extractos de plantas em *T. vaginalis* têm sido publicados, apresentando-os como uma possível opção terapêutica ^(28, 29).

O vírus do papilloma humano (HPV) é o agente de uma das ISTs virais mais comuns ⁽³⁰⁾. Esta infecção, geralmente auto-controlada, pode persistir originando o carcinoma cervical ⁽³¹⁾. A terapêutica sistémica é geralmente ineficaz, sendo a terapêutica tópica a mais utilizada e geralmente direccionada às lesões ^(32, 33). Derivados de catequinas extraídos das folhas do chá verde (*Camellia sinensis* L.) têm sido propostos como alternativas terapêuticas eficazes ⁽³⁴⁾.

Na realidade, o uso de terapias naturais no tratamento de infecções genitais tem sido descrito ^(35, 36). Neste artigo apresentamos um resumo dos estudos mais relevantes nesta área, apontando para extractos de plantas e seus compostos bioactivos com potencial interesse no desenvolvimento de propostas terapêuticas mais eficazes para o tratamento de cada uma destas infecções.

Extractos com actividade anti-*Candida*

De entre os extractos, os óleos essenciais têm sido largamente estudados como potenciais alternativas tera-



FIGURA 2. *Satureja montana*. Foto: B. Vanaclocha.

pêuticas no tratamento da CVV, apresentando alguns deles evidentes efeitos antifúngicos ⁽³⁷⁾. O óleo essencial obtido a partir de plantas do género *Melaleuca*, conhecido por "Tea Tree Oil" (TTO), é um dos mais estudados. Estas plantas, largamente distribuídas na Austrália, têm sido tradicionalmente utilizadas no tratamento de infecções. TTO apresenta elevada prevalência de compostos monoterpénicos oxigenados, maioritariamente álcoois, considerados de elevada relevância no que respeita ao efeito antimicrobiano do óleo. A composição química do TTO é definida por uma norma internacional, pese embora as espécies de *Melaleuca* utilizadas para a sua extracção não estarem completamente definidas ⁽³⁸⁾. *M. alternifolia* é a espécie mais utilizada para a sua extracção, sem detrimento de óleos extraídos de outras espécies respeitarem os requisitos da norma ⁽³⁹⁻⁴³⁾. Os compostos maioritários referenciados para o TTO são o 4-terpineol o 1,8-cineol, seguidos de γ -terpineno e α -terpineno ⁽⁴²⁾. Embora o TTO seja reconhecido pelo seu efeito anti-*Candida*, o quimiotipo 1,8-cineol é frequentemente descrito como menos



FIGURA 3. *Lythrum salicaria*. Foto: S. Cañigüeral.

potente do que o quimiotipo 4-terpineol ⁽⁴¹⁾. A actividade do óleo e do seu composto maioritário foi descrita como similar e mais notória que o efeito da anfotericina B e do 5-fluorocitosina ^(39-41, 44). Os estudos referidos evidenciam o papel determinante do composto 4-terpineol na actividade do óleo, sem detrimento da contribuição do linalol e α -terpineol para a sua bioactividade ⁽⁴⁵⁾. Alterações da permeabilidade da membrana de *C. albicans* e *C. glabrata* são apontadas como a base do mecanismo de acção do óleo, evidenciadas pela marcação com iodeto de propídio após 30 minutos de tratamento com o óleo ^(44, 46), bem como pela inibição da respiração e da formação do tubo germinativo em *C. albicans* ^(46, 47).

Óleos essenciais extraídos de plantas do género *Thymus* spp. têm sido igualmente apontados como dos mais activos na inibição do crescimento destas leveduras. Este potente efeito, muito relacionado com os quimiotipos fenólicos, nomeadamente óleos ricos em timol e carvacrol ^(48, 49), sugere que espécies como *T. pulegioides*, *T. vulgaris* e *T. zygis* ricas nestes compostos sejam mais activas do

que *T. mastichina* e *T. capitellatus*, ricas em 1,8-cineol ⁽⁵⁰⁻⁵³⁾. O efeito antifúngico do timol foi demonstrado em células planctónicas e em biofilmes de *Candida* spp ^(51, 54). Um estudo que envolveu a avaliação antifúngica de vários óleos essenciais, demonstrou que o produto extraído de *Zataria multiflora*, igualmente rico nestes dois compostos, apresentava um claro efeito anti-*Candida* ⁽⁵⁵⁾. Adicionalmente, óleos essenciais extraídos de outras plantas ricas em carvacrol, como por exemplo de *Origanum*, *Satureja montana* e de *Thymbra capitata*, são igualmente considerados potentes produtos anti-*Candida* ^(49, 56-59). Uma nova formulação para aplicação genital foi desenvolvida, associando quitosano e óleo essencial de *T. capitata*, tendo apresentado uma interessante actividade anti-*Candida* ⁽⁶⁰⁾. Para além do carvacrol, a presença adicional de *cis*- β -cimeno no óleo essencial obtido de *Lavandula multifida* L, parece contribuir largamente para o seu efeito antifúngico, mediado pela inibição do processo de formação de hifas ⁽⁶¹⁾.

Embora os óleos de quimiotipo fenólico apresentem elevada bioactividade, em outros óleos distintos foram também evidenciadas características antifúngicas. O óleo extraído de *Mentha x piperita*, especialmente as amostras com conteúdos mais elevados em mentol, mentona e 1,8-cineol, demonstraram efeitos antifúngicos potentes. As amostras ricas em linalol e carvona foram consideradas de actividade moderada ^(40, 56, 62-65). O potente efeito da *M. x piperita* em biofilmes de *C. albicans* foi também reportado ⁽⁶⁵⁾.

Óleos essenciais com conteúdos altos noutras classes de compostos, nomeadamente o de *Cymbopogon citratus* (citral), o de folhas de *Cinnamomum verum* (eugenol) e o de *Syzygium aromaticum* (eugenol) também demonstraram potente actividade anti-*Candida* ^(49, 56, 66-69).

Para além dos óleos essenciais, extractos não-aromáticos também têm sido sugeridos pela sua actividade antifúngica. O extracto aquoso do chá, *C. sinensis*, é um dos grandes exemplos ⁽⁷⁰⁻⁷⁶⁾. Misturas de chás ou ainda os extractos puros de chá branco, verde, vermelho (semi-fermentado) ou preto (fermentado), têm vindo a ser estudados e reportados como antimicrobianos e antioxidantes, relacionando estes efeitos com o seu elevado conteúdo fenólico, especialmente em derivados de catequinas ⁽⁷¹⁾. A epigallocatequina-3-galato (EGCG) é o principal polifenol do chá verde, e o principal responsável pela actividade anti-*Candida* ⁽⁷¹⁾. O efeito antifúngico destes extractos/compostos foi também estudado em combinação com os antifúngicos clássicos, anfotericina B e fluconazol, tendo apresentado um efeito

sinérgico ⁽⁷³⁾. O mecanismo de acção da EGCG foi estudado e relacionado com a via do metabolismo do ácido fólico de *C. albicans*, apresentando-se como inibidora da síntese de ergosterol ⁽⁷⁵⁾. Este composto também apresentou, num outro estudo, efeito antimicrobiano em *C. glabrata*, nomeadamente numa estirpe resistente ao cetoconazol ⁽⁷⁶⁾.

Em um outro estudo, a presença de taninos e flavonóides num extracto metanólico de salgueirinha (*Lythrum salicaria*), foi relacionada com o seu efeito fungicida em células de *C. albicans*. Os extractos de epilóbio (*Epilobium angustifolium*), ulmária (*Filipendula ulmaria*), camomila (*Matricaria recutita*) e amora-ártica (*Rubus chamaemorus*) inibiram ligeiramente o crescimento desta levedura ⁽⁷⁷⁾.

Três extractos diferentes preparados com clorofórmio, acetato etílico e n-butanol, a partir das folhas de alcachofra (*Cynara scolymus* L.), apresentaram efeitos antimicrobianos distintos. O extracto de n-butanol revelou-se o mais activo, tendo sido identificados vários compostos fenólicos na sua composição química: derivados do ácido cafeoilquínico (ácido clorogénico, ácidos 3,5-di-*O*-cafeoilquínico e 4,5-di-*O*-cafeoilquínico) e flavonóides (luteolina-7-rutinosídeo, cinarósido, apigenina-7-rutinosídeo e apigenina-7-*O*-β-D-glucopiranosídeo), tendo apresentado alguns destes compostos isoladamente efeito antifúngico em *Candida* spp. ⁽⁷⁸⁾. Também os extractos etanólicos, metanólicos e água/acetona obtidos a partir de *Cistus ladanifer* e *Arbutus unedo* foram reportados como activos contra *Candida*, incluindo *C. tropicalis* ⁽⁷⁹⁾.

O extracto metanólico obtido a partir das folhas de *Solanum chrysotrichum* apresentou efeito anti-*Candida*, tendo sido relacionada esta actividade fundamentalmente com a presença de saponinas na sua composição química ⁽⁸⁰⁾.

A presença de um secoiridoide – oleuropeína – na composição química do extracto aquoso obtido a partir das folhas de oliveira (*Olea europaea* L.), variedade Cobrançosa, foi relacionada com a sua importante actividade antifúngica ⁽⁸¹⁾.

O efeito antifúngico do extracto etanólico de *Mahonia aquifolium*, foi estudado em 20 estirpes de *Candida* spp. isoladas de casos crónicos de candidose vulvovaginal (17 *C. albicans*, 2 *C. glabrata* e 1 *C. tropicalis*) tendo sido relacionado com a presença de 2 alcalóides na sua composição química: a berberina e a jatrorrizina ^(82, 83).

Os extractos metanólico, etilacetato e hexano de *Jatropha curcas*, planta tradicionalmente utilizada no tratamento de infecções humanas, foram estudados ao nível da sua com-



FIGURA 4. *Myrtus communis*. Foto: B. Vanaclocha.

posição química e actividade antimicrobiana. Os extractos apresentaram diversos fitoquímicos, nomeadamente alcalóides, saponinas e taninos, tendo o extracto de hexano apresentado o maior efeito anti-*Candida*. Estes resultados confirmam o interesse da utilização desta planta no tratamento de infecções genitais causadas pela levedura ⁽⁸⁴⁾.

Os extractos aquosos de cebola (*Allium cepa* L.) e de alho (*Allium sativum* L.), foram também reportados como activos contra *Candida* spp, sendo o seu efeito relacionado com a presença de compostos organossulfurados, nomeadamente de derivados da cisteína como a aliína ou a alicina ⁽⁸⁵⁾. Ensaios clínicos recentes demonstraram a eficácia terapêutica de um creme contendo extratos de alho e de tomilho no tratamento de vaginites micóticas ⁽⁸⁶⁾.

Extractos com actividade anti-*Gardnerella*

O evidente efeito antimicrobiano de TTO em *G. vaginalis* tem promovido este produto como benéfico para o tratamento da BV. Este efeito parece ser mais pronunciado sobre o agente patogénico do que na inibição do crescimento



FIGURA 5. *Lavandula multifida*. Foto: B. Vanaclocha.

dos microrganismos probióticos, *Lactobacillus* spp. ⁽⁸⁷⁾. Óleos essenciais de quimiotipo fenólico, nomeadamente *Zataria multiflora*, foram também sugeridos pelo seu potencial interesse no tratamento desta infecção, graças à sua actividade anti-*Gardnerella* ⁽⁵⁵⁾. A eficácia terapêutica de um creme vaginal contendo extracto de *Zataria multiflora* (Loucorex™, Barij Essence Company, Irão) foi demonstrada e equiparada à do gel de metronidazol no tratamento da BV em 45 mulheres não-grávidas ⁽⁸⁸⁾. Efectivamente um estudo recente demonstrou que o efeito destes compostos, especificamente o timol, não se restringia a células planctónicas de *Gardnerella*, apresentando-se como eficaz na prevenção da formação dos seus biofilmes e na inibição e desestabilização de matrizes pré-formadas ⁽⁸⁹⁾. O óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, caracterizado pela prevalência em citral, foi um dos que apresentou actividade anti-*Gardnerella* ⁽⁹⁰⁾. O extracto metanólico de *Jatropha curcas*, rico em alcalóides, saponinas e taninos, demonstrou evidente efeito antibacteriano contra *G. vaginalis* ⁽⁸⁴⁾.

Extractos com actividade anti-*Trichomonas*

O estudo do efeito de extractos de plantas na viabilidade de *T. vaginalis* tem sido apresentado em diversos artigos. Um dos óleos essenciais mais estudados do ponto de vista de interesse terapêutico em infecções genitais, o TTO, demonstrou ter actividade anti-*Trichomonas* ^(91, 92). Para os óleos extraídos de *Artemisia aucheri* Boiss (rico em 1,8-cineol e canfora), *Myrtus communis* L. (rico em acetato de mirtenilo) e de *Zataria multiflora* Boiss (rico em timol e carvacrol) também foram descritos resultados de bioactividade ⁽⁹³⁾. Para além dos óleos essenciais, a actividade antimicrobiana de extractos de plantas não aromáticas ou seus compostos isolados tem sido estudada. Flavonoides isolados de sementes de *Dalbergia cochinchinensis*, dalcochinina e dalcochinina-8'-*O*-β-D-glucósido revelaram-se activos contra *T. vaginalis* (CMI: 12,5 μM) ⁽⁹⁴⁾. De igual modo, saponinas como mimengósido A extraída de *Buddleja madagascariensis* ⁽⁹⁵⁾; torvósido A e torvósido H isoladas de frutos de *Solanum torvum*, bem como as suas agliconas ⁽⁹⁴⁾ demonstraram efeito antimicrobiano contra este parasita. O efeito de derivados glicosilados de iridóides nomeadamente gonocariósido A isolado de folhas de *Gonocaryum substratum*, ligustolósido A isolado de folhas de *Ligustrum confusum*, bem como plumierido isolados das flores de *Plumeria obtusa* foram reportados pelo seu efeito anti-tricomonas e sem efeito citotóxico em células de mamíferos ⁽⁹⁴⁾.

Anti-HPV

O chá e as suas catequinas, nomeadamente a EGCG anteriormente referida pela sua actividade antimicrobiana, têm sido sugeridos como potenciais alternativas terapêuticas nas infecções por HPV, tendo em conta o seu comprovado efeito antiproliferativo em células cancerígenas cervicais ^(96, 97). Esta catequina tem a capacidade de inibir o crescimento destas células por indução da sua apoptose e regulação da expressão genética. A eficácia clínica deste extracto veiculado em pomada e/ou cápsulas foi demonstrada em doentes com lesões infectadas por este vírus ⁽⁹⁸⁾. Na realidade, a capacidade destas moléculas na erradicação das lesões de HPV, resultam da combinação dos seus efeitos antiviral, imunoestimulador e antioxidante, com reduzida toxicidade em humanos ^(72, 74, 97, 99). Esta combinação resultou no desenvolvimento do primeiro produto botânico aprovado pela *United States Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento de uma doença humana ⁽⁷⁴⁾. O Veregen® é uma pomada com elevada concentração de

extracto aquoso de chá verde descafeinado que apresenta concentrações de catequinas de *C. sinensis* superiores a 85%. Este produto tem sido usado no tratamento de lesões ano-genitais causadas por este vírus e a sua patente está protegida até 2017⁽⁷⁴⁾. Outro composto natural com efeito antiviral e anticancerígeno e com possível aplicação nesta infecção é a curcumina, extraída dos rizomas de *Curcuma longa* L., e que apresenta capacidade de inibir a comunicação celular e a regulação da expressão genética das células hospedeiras infectadas com HPV-16 e HPV-18^(70, 100, 101).

A potencial aplicação do resveratrol, polifenol presente nas uvas, vinho tinto e em várias bagas, no controlo da infecção por HPV tem-se apresentado como promissora, dados os resultados publicados referentes à mediação da supressão do HPV observada em modelos de cancro cervical⁽¹⁰⁰⁾.

Conclusão

Os extractos de plantas têm sido apresentados como interessantes produtos com actividade antimicrobiana. A vantajosa diversidade de fitoquímicos presentes é proposta como uma mais-valia para o desenvolvimento de novos fármacos, quer encarando-os como mistura de princípios activos, quer contemplando o isolamento das moléculas mais activas. Nos últimos anos, graças ao desenvolvimento de técnicas de isolamento e identificação de compostos, muito se tem descoberto sobre a bioactividade destes produtos. No entanto, são necessários mais esclarecimentos sobre a relação da actividade antimicrobiana e o seu mecanismo de acção pois informação de pormenor sobre a interacção dos fitoquímicos com os microrganismos é ainda considerada escassa. Esta informação é considerada essencial para limitar efeitos secundários e permitir a efectiva aplicação clínica destes produtos. No entanto, diferentes extractos e os seus compostos mais bioactivos têm vindo a ser estudados e propostos como potenciais alternativas terapêuticas para o tratamento de infecções genitais. Algumas formulações têm sido desenvolvidas e outras estão já comercializadas, constituindo verdadeiras alternativas terapêuticas. Ensaio toxicológicos e de segurança, assim como ensaios clínicos que confirmem a sua bioactividade, precisam ser contemplados em estudos futuros contribuindo para uma maior aceitabilidade destas formulações terapêuticas. Seguramente, no futuro, os extractos de plantas ou os seus compostos mais activos continuarão a ser encarados como relevantes no desenvolvimento de novas estratégias antimicrobianas.

Referências bibliográficas

1. Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J Nat Prod* 2007; 70 (3): 461-477.
2. Hostettmann K, Marston A. Twenty years of research into medicinal plants: Results and perspectives. *Phytochemistry Reviews* 2002; 1 (3): 275-285.
3. Mulzer J, Bohlmann R. The role of natural products in drug discovery (Ernst Schering Research Foundation Workshop 32). Berlin: Springer Verlag, 2000.
4. Pauli A. Anticandidal low molecular compounds from higher plants with special reference to compounds from essential oils. *Med Res Rev* 2006; 26 (2): 223-268.
5. Cravotto G, Boffa L, Genzini L, Garella D. Phytotherapeutics: an evaluation of the potential of 1000 plants. *J Clin Pharm Ther* 2010; 35 (1): 11-48.
6. Clark AM. Natural products as a resource for new drugs. *Pharmaceut Res* 1996; 13 (8): 1133-1144.
7. Paterson I, Anderson EA., Chemistry. The renaissance of natural products as drug candidates. *Science* 2005; 310 (5747): 451-453.
8. Koehn FE, Carter GT. The evolving role of natural products in drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4 (3): 206-220.
9. Kent HL. Epidemiology of vaginitis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1991; 165 (4 Pt 2): 1168-1176.
10. Nyirjesy P, Robinson J, Mathew L, Lev-Sagie A, Reyes I, Culhane JF. Alternative therapies in women with chronic vaginitis. *Obstetrics and gynecology* 2011; 117 (4): 856-861.
11. Schmid GP. The epidemiology of bacterial vaginosis. *Int J Gynaecol Obstet* 1999; 67 (Suppl 1): S17-20.
12. Centers for Disease Control and Prevention, C.D.C. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines 55 (RR-11) www.cdc.gov (15-06-2009).
13. Schwabke JR, Desmond RA, Oh MK. Predictors of bacterial vaginosis in adolescent women who douche. *Sex Transm Dis* 2004; 31 (7): 433-436.
14. Barcelos MR, Vargas PR, Baroni C, Miranda AE. Genital infections in women attending a Primary Unit of Health: prevalence and risk behaviors. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2008; 30 (7): 349-354.
15. Gardner HL, Dukes CD. *Haemophilus vaginalis* vaginitis: a newly defined specific infection previously classified non-specific vaginitis. *Am J Obstet Gynecol* 1955; 69 (5): 962-976.
16. Sobel JD. What's new in bacterial vaginosis and trichomoniasis? *Infect Dis Clin North Am* 2005; 19 (2): 387-406.
17. Aroutcheva AA, Simoes JA, Behbakht K, Faro S. *Gardnerella vaginalis* isolated from patients with bacterial vaginosis and from patients with healthy vaginal ecosystems. *Clin Infect Dis* 2001; 33 (7): 1022-1027.
18. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med* 1983; 74 (1): 14-22.

19. Beigi RH, Austin MN, Meyn LA, Krohn MA, Hillier SL. Antimicrobial resistance associated with the treatment of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191 (4): 1124-1129.
20. Austin MN, Beigi RH, Meyn LA, Hillier SL. Microbiologic response to treatment of bacterial vaginosis with topical clindamycin or metronidazole. *J Clin Microbiol* 2005; 43 (9): 4492-4497.
21. Hurley R, De Louvois J., *Candida vaginitis*. *Postgrad Med J* 1979; 55 (647): 645-647.
22. Foxman B, Marsh JV, Gillespie B, Sobel JD. Frequency and response to vaginal symptoms among white and African American women: results of a random digit dialing survey. *J Womens Health* 1998; 7 (9): 1167-1174.
23. Sobel JD. Vulvovaginal candidosis. *Lancet* 2007; 369 (9577): 1961-1971.
24. Patel SR, Wiese W, Patel SC, Ohl C, Byrd JC, Estrada CA. Systematic review of diagnostic tests for vaginal trichomoniasis. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2000; 8 (5-6): 248-257.
25. Schwebke JR, Burgess D. Trichomoniasis. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17 (4): 794-803.
26. Upcroft P, Upcroft JA. Drug targets and mechanisms of resistance in the anaerobic protozoa. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14 (1): 150-164.
27. Upcroft J.A, Campbell RW, Benakli K, Upcroft P, Vanelle P. Efficacy of new 5-nitroimidazoles against metronidazole-susceptible and -resistant *Giardia*, *Trichomonas*, and *Entamoeba* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43 (1): 73-76.
28. Calzada F, Yopez-Mulia L, Tapia-Contreras A. Effect of Mexican medicinal plant used to treat trichomoniasis on *Trichomonas vaginalis* trophozoites. *Journal of Ethnopharmacology* 2007; 113 (2): 248-251.
29. Muelas-Serrano S, Nogal JJ, Martinez-Diaz RA, Escario JA, Martinez-Fernandez AR, Gomez-Barrio A. In vitro screening of american plant extracts on *Trypanosoma cruzi* and *trichomonas vaginalis*. *Journal of Ethnopharmacology* 2000; 71 (1-2): 101-107.
30. Baseman JG, Koutsky LA. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol* 2005; 32 (Suppl 1): S16-24.
31. Arbyn M, Castellsague X, de Sanjose S, Bruni L, Saraiya M, Bray F, Ferlay J., Worldwide burden of cervical cancer in 2008. *Ann Oncol* 2011; 22 (12): 2675-2686.
32. Stanley MA., Genital human papillomavirus infections: current and prospective therapies. *J Gen Virol* 2012; 93 (Pt 4): 681-691.
33. Scheinfeld N, Lehman DS. An evidence-based review of medical and surgical treatments of genital warts. *Dermatol Online J* 2006; 12 (3): 5.
34. Tatti S, Stockfleth E, Beutner KR, Tawfik H, Elsasser U, Weyrauch P, Mescheder A. Polyphenon E: a new treatment for external anogenital warts. *Br J Dermatol* 2010; 162 (1): 176-184.
35. Koroch A, Juliani R, Zygadlo J. In: *Flavour Frag J*. RG, B. Berlin: Springer Press, 2007, pp 87-115.
36. Van Kessel K, Assefi N, Marrazzo J, Eckert L. Common complementary and alternative therapies for yeast vaginitis and bacterial vaginosis: a systematic review. *Obstetrical & Gynecological Survey* 2003; 58 (5): 351-358.
37. Palmeira-de-Oliveira, A, Salgueiro L, Palmeira-de-Oliveira R, Martinez-de-Oliveira J, Pina-Vaz C, Queiroz JA, Rodrigues AG. Anti-Candida activity of essential oils. *Mini Rev Med Chem* 2009; 9 (11): 1292-1305.
38. International Organization for Standardisation. ISO 4730:2004: Geneve, Switzerland, 2004.
39. Oliva B, Piccirilli E, Ceddia T, Pontieri E, Aureli P, Ferrini AM. Antimycotic activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil and its major components. *Lett Appl Microbiol* 2003; 37 (2): 185-187.
40. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. In-vitro activity of essential oils, in particular *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and tea tree oil products, against *Candida* spp. *J Antimicrob Chemother* 1998; 42 (5): 591-595.
41. Farag RS, Shalaby AS, El-Baroty GA, Ibrahim NA, Ali MA, Hassan EM. Chemical and biological evaluation of the essential oils of different *Melaleuca* species. *Phytother Res* 2004; 18 (1): 30-35.
42. Carson CF, Hammer KA, Riley TV. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19 (1): 50-62.
43. Carson CF, Riley TV. Safety, efficacy and provenance of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil. *Contact Dermatitis* 2001; 45 (2): 65-67.
44. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antifungal effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53 (6): 1081-1085.
45. Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *J Appl Bacteriol* 1995; 78 (3): 264-269.
46. Cox SD, Mann CM, Markham JL, Bell HC, Gustafson JE, Warmingtton JR, et al. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J Appl Microbiol* 2000; 88 (1): 170-175.
47. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil inhibits germ tube formation by *Candida albicans*. *Med Mycol* 2000; 38: 355-362.
48. Cosentino S, Tuberioso CI, Pisano B, Satta M, Mascia V, Arzedi E, Palmas F. In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Lett Appl Microbiol* 1999; 29 (2): 130-135.
49. Giordani R, Regli P, Kaloustian J, Mikail C, Abou L, Portugal H. Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. *Phytother Res* 2004; 18 (12): 990-995.
50. Pinto E, Pina-Vaz C, Salgueiro L, Goncalves MJ, Costa-de-Oliveira S, Cavaleiro C, et al. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *J Med Microbiol* 2006; 55 (Pt 10): 1367-1373.
51. Pina-Vaz C, Goncalves Rodrigues A, Pinto E, Costa-de-Oliveira S, Tavares C, Salgueiro L, et al. Antifungal activity of *Thymus* oils

- and their major compounds. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004; 18 (1): 73-78.
52. Salgueiro L, Pinto E, Gonçalves MJ, Costa I, Palmeira A, Cavaleiro C, et al. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus capitellatus* against *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte strains. *Flavour Fragr J* 2006; 21: 749-753.
53. Faleiro ML, Miguel MG, Ladeiro F, Venancio F, Tavares R, Brito JC, et al. Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of *Thymus*. *Lett Appl Microbiol* 2003; 36 (1): 35-40.
54. Braga PC, Culici M, Alfieri M, Dal Sasso M. Thymol inhibits *Candida albicans* biofilm formation and mature biofilm. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 31 (5): 472-477.
55. Bayat M, Kousha A, Azizi Saragi A, Seyed Reza Rohani R, Nisiani M. Study Effects of Some Kinds of Standard Essences over Two Microorganisms (*Candida albicans* and *Gardnerella vaginalis*) Related to Leucorrhoea Disease as in vitro. *World Applied Sciences Journal* 2008; 5 (4): 418-421.
56. Tampieri MP, Galuppi R, Macchioni F, Carelle MS, Falcioni L, Cioni PL, et al. The inhibition of *Candida albicans* by selected essential oils and their major components. *Mycopathologia* 2005; 159 (3): 339-345.
57. Salgueiro LR, Pinto E, Gonçalves MJ, Pina-Vaz C, Cavaleiro C, Rodrigues A.G, et al. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Thymra capitata*. *Planta Medica* 2004; 70 (6): 572-575.
58. Salgueiro LR, Cavaleiro C, Pinto E, Pina-Vaz C, Rodrigues A.G, Palmeira, A, et al. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Origanum virens* on *Candida* species. *Planta Med* 2003; 69 (9): 871-874.
59. Palmeira-de-Oliveira A, Gaspar C, Palmeira-de-Oliveira R, Silva-Dias A, Salgueiro L, Cavaleiro C, et al. The anti-*Candida* activity of *Thymra capitata* essential oil: effect upon pre-formed biofilm. *J Ethnopharmacol* 2012; 140 (2): 379-383.
60. Palmeira-de-Oliveira A, Palmeira-de-Oliveira R, Gaspar C, Salgueiro L, Cavaleiro C, Martinez-de-Oliveira J, et al. Association of *Thymra capitata* essential oil and chitosan (TCCH hydrogel): a putative therapeutic tool for the treatment of vulvovaginal candidosis *Flavour and Fragrance Journal*, in press.
61. Zuzarte M, Vale-Silva L, Gonçalves M, Cavaleiro C, Vaz S, Canhoto J, et al. Antifungal activity of phenolic-rich *Lavandula multifida* L. essential oil. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2012; 31 (7): 1359-1366.
62. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol* 1999; 86 (6): 985-990.
63. Duarte MC, Figueira GM, Sartoratto A, Rehder VL, Delarmelina, C. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 2005; 97 (2): 305-311.
64. Hili P, Evans CS, Veness RG. Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. *Lett Appl Microbiol* 1997; 24 (4): 269-275.
65. Agarwa V, Lal P, Pruthi V. Prevention of *Candida albicans* biofilm by plant oils. *Mycopathologia* 2008; 165: 13-19.
66. da Silva CB, Guterres SS, Weisheimer V, Schapoval EE. Antifungal activity of the lemongrass oil and citral against *Candida* spp. *Braz J Infect Dis* 2008; 12 (1): 63-66.
67. Devkotte AN, Zore GB, Karuppaiyl SM. Potential of plant oils as inhibitors of *Candida albicans* growth. *FEMS Yeasts Res* 2005; 5: 867-873.
68. Tavares CB, Pina-Vaz C, Rodrigues AG, Costa-de-Oliveira S, Pinto E, Salgueiro L, et al. The fungicidal activity of eugenol on *Candida* spp results from a primary lesion of the cell membrane. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9 (1): 89.
69. Ahmad N, Alam MK, Shehbaz A, Khan A, Mannan A, Hakim SR, et al. Antimicrobial activity of clove oil and its potential in the treatment of vaginal candidiasis. *J Drug Target* 2005; 13 (10): 555-561.
70. Divya CS, Pillai MR. Antitumor action of curcumin in human papillomavirus associated cells involves downregulation of viral oncogenes, prevention of NFkB and AP-1 translocation, and modulation of apoptosis. *Mol Carcinog* 2006; 45 (5): 320-332.
71. Almajano MP, Carbó R, Angel López Jiménez J, Gordon MH. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chemistry* 2008; 108: 55-63.
72. Cheng SJ, Wang DC, Hara Y. Composition for treating *Condyloma acuminata* US Patent N°: 5795911, date: Aug 18, 1998.
73. Hirasawa M, Takada K. Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity of antimycotics against *Candida albicans*. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53 (2): 225-229.
74. Meltzer SM, Monk BJ, Tewari KS. Green tea catechins for treatment of external genital warts. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 200 (3): 231-237.
75. Navarro-Martinez MD, Garcia-Canovas F, Rodriguez-Lopez JN. Tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits ergosterol synthesis by disturbing folic acid metabolism in *Candida albicans*. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57 (6): 1083-1092.
76. Turchetti B, Pinelli P, Buzzini P, Romani A, Heimler D, Franconi F, et al. In vitro antimycotic activity of some plant extracts towards yeast and yeast-like strains. *Phytother Res* 2005; 19 (1): 44-49.
77. Rauha JP, Remes S, Heinonen M, Hopia A, Kahkonen M, Kujala T, et al. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *Int J Food Microbiol* 2000; 56 (1): 3-12.
78. Zhu X, Zhang H, Lo R. Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities. *J Agric Food Chem* 2004; 52 (24): 7272-7278.
79. Ferreira S, Santos J, Duarte A, Duarte AP, Queiroz JA, Domingues FC. Screening of antimicrobial activity of *Cistus ladanifer* and *Arbutus unedo* extracts. *Nat Prod Res* 2012; 26 (16): 1558-1560.
80. Gonzalez M, Zamilpa A, Marquina S, Navarro V, Alvarez L. Antimycotic spirostanol saponins from *Solanum hispidum* leaves

and their structure-activity relationships. *J Nat Prod* 2004; 67 (6): 938-941.

81. Pereira AP, Ferreira IC, Marcelino F, Valentao P, Andrade PB, Seabra R, et al. Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrancosa) leaves. *Molecules* 2007; 12 (5): 1153-1162.

82. Iwasa K, Moriyasu M, Yamori T, Turuo T, Lee DU, Wiegrebbe W. In vitro cytotoxicity of the protoberberine-type alkaloids. *J Nat Prod* 2001; 64 (7): 896-898.

83. Slobodnikova L, Kost'lova D, Labudova D, Kotulova D, Ketmann V. Antimicrobial activity of *Mahonia aquifolium* crude extract and its major isolated alkaloids. *Phytother Res* 2004; 18 (8): 674-676.

84. Aiyelaaagbe OO, Adeniyi BA, Fatnsin OF, Arimah BD. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Jatropha curcas* roots. *International Journal of Pharmacology* 2007; 3 (1): 1006-1110.

85. Shams-Ghahfarokhi M, Shokoohamiri MR, Amirrajab N, Moghadas B, Ghajari A, Zeini F, et al. In vitro antifungal activities of *Allium cepa*, *Allium sativum* and ketoconazole against some pathogenic yeasts and dermatophytes. *Fitoterapia* 2006; 77 (4): 321-323.

86. Bahadoran P, Rokni FK, Fahami F. Investigating the therapeutic effect of vaginal cream containing garlic and thyme compared to clotrimazole cream for the treatment of mycotic vaginitis. *Iran J Nurs Midwifery Res* 2010; 15 (Supl 1): 343-349.

87. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. In vitro susceptibilities of lactobacilli and organisms associated with bacterial vaginosis to *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43 (1): 196.

88. Simbar M, Azarbad Z, Mojab F, Majd HA. A comparative study of the therapeutic effects of the *Zataria multiflora* vaginal cream and metronidazole vaginal gel on bacterial vaginosis. *Phytomedicine* 2008; 15 (12): 1025-1031.

89. Braga PC, Dal Sasso M, Culici M, Spallino A. Inhibitory activity of thymol on native and mature *Gardnerella vaginalis* biofilms: in vitro study. *Arzneimittelforschung* 2010; 60 (11): 675-681.

90. Schwiertz A, Duttke C, Hild J, Müller HJ. In vitro activity of essential oils on microorganisms isolated from vaginal infections. *International Journal of Aromatherapy* 2006; 16 (3-4): 169-174.

91. Viollon C, Mandin D, Chaumont J. Activités antagonistes, in vitro, of some essential oils and natural volatile compounds vis à vis the growth of *Trichomonas vaginalis*. *Fitoterapia* 1996; 67: 279-281.

92. Pena EF. *Melaleuca alternifolia* oil. Its use for trichomonal vaginitis and other vaginal infections. *Obstetrics and gynecology* 1962; 19, 793-795.

93. Azadbakht M, Ziai H, Shaaban Khani B. Effect of essential oils of *Artemisia Aucheri* Boiss. *Zataria multiflora* Boiss and *Mirtus communis* L. on *Trichomonas vaginalis*. *Journal of Medicinal Plants* 2003; 2 (8): 35-40.

94. Arthan D, Sithiprom S, Thima, K, Limmatvatirat C, Chavalitshewinkoon-Petmitr P, Svasti J. Inhibitory effects of Thai plants beta-glycosides on *Trichomonas vaginalis*. *Parasitol Res* 2008; 103 (2): 443-448.

95. Emam AM, Moussa AM, Faure R, Favel A, Delmas, F, Elias, R, et al. Isolation and biological study of a triterpenoid saponin, mimengoside A, from the leaves of *Buddleja madagascariensis*. *Planta Med* 1996; 62 (1): 92-93.

96. Ahn WS, Huh SW, Bae SM, Lee IP, Lee JM, Namkoong SE, et al. A major constituent of green tea, EGCG, inhibits the growth of a human cervical cancer cell line, CaSki cells, through apoptosis, G(1) arrest, and regulation of gene expression. *DNA Cell Biol* 2003; 22 (3): 217-224.

97. Zou C, Liu H, Feugang JM, Hao Z, Chow HH, Garcia F. Green tea compound in chemoprevention of cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2010; 20 (4): 617-624.

98. Ahn WS, Yoo J, Huh SW, Kim CK, Lee JM, Namkoong SE, et al. Protective effects of green tea extracts (polyphenon E and EGCG) on human cervical lesions. *Eur J Cancer Prev* 2003; 12 (5): 383-390.

99. Cheng SJB, Wang DCB, Hara YF, Lee, IPS, Ahn WSS. Methods for treating hyperplasia 2001.

100. Di Domenico F, Foppoli, C, Coccia, R, Perluigi, M. Antioxidants in cervical cancer: chemopreventive and chemotherapeutic effects of polyphenols. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1822 (5): 737-747.

101. Maher DM, Bell MC, O'Donnell EA, Gupta BK, Jaggi M, Chauhan SC. Curcumin suppresses human papillomavirus oncoproteins, restores p53, Rb, and PTPN13 proteins and inhibits benzo(a)pyrene-induced upregulation of HPV E7. *Mol Carcinog* 2011; 50 (1): 47-57.